

論文内容の要旨

報告番号		氏名	江浦 信之
Brainstem organoids from human pluripotent stem cells ヒト多能性幹細胞を用いた脳幹オルガノイドの開発			

要旨

【背景】 脳幹は中脳、橋、延髄から構成され、大脳皮質、大脳基底核などのネットワークを形成し、意識、心拍、血圧、呼吸などの生命維持に不可欠な機能を有している。したがって、変性疾患や脳血管障害、腫瘍など、脳幹を侵す疾患は死に直結する可能性がある。ヒトの脳幹を生検することは倫理的に不可能であり、脳幹を侵す疾患の発症機序の解明および新たな治療法の確立のためには、ヒト脳幹組織を再現するモデルが必要である。近年、多能性幹細胞を分化誘導することにより様々な臓器を模したオルガノイドが開発されているが、脳幹オルガノイドの開発には至っていない。

【方法】 我々はヒト胚性幹細胞 (ES 細胞) にインスリン、プロゲステロン、トランスフェリン、Glial Cell Line-derived Neurotrophic Factor (GDNF)、Brain Derived Neurotrophic factor (BDNF) など複数の成長因子を加え振盪下での培養を行うことにより、1 か月という短期間で特徴的な黒色成分を伴う脳オルガノイドを作製することに成功した。この黒色斑は、免疫組織化学染色 (IHC) によって、神経堤由来のメラノサイトであることがわかった。さらに、定量 PCR、IHC から、神経幹細胞に加え、中脳ドパミン産生細胞に由来する tyrosine hydroxylase (TH)、橋に由来する Gastrulation Homeobox 2 (GBX2)、延髄のコリン作動性神経に由来する choline acetyltransferase (ChAT)、神経堤由来の SRY-box 9 (SOX9) を同定した。質量分析法では、中脳、橋、延髄、大脳基底核、小脳に特異的な蛋白の発現を複数同定した。パッチクランプ法では、得られたオルガノイドが電気生理学的活性を有していることが示された。RNA sequencing、一細胞 RNA sequencing では、脳幹成分に加え、大脳基底核や小脳、視床下部に関連する遺伝子の発現を同定した。

【結論】 我々が作製したオルガノイドは脳幹成分を有し、かつ脳幹周囲に存在する神経堤や小脳、大脳基底核、視床下部由来の成分をも含有することが示唆された。脳幹オルガノイドを利用することにより、これまで疾患モデル化できなかつた、脳幹を侵す神経疾患の再現が可能となり、病態解明や治療法開発における強力なツールとなることが期待される。